VIDAS® β2 Microglobulin

IVD

VIDAS β2 Microglobulin est un test quantitatif automatisé sur les instruments de la famille VIDAS, permettant la mesure quantitative de la β2 microglobuline dans le sérum ou le plasma humain (héparinate de lithium ou EDTA), ainsi que dans les urines par la technique ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

La β2 microglobuline (β2 M) est un polypeptide de faible poids moléculaire (11 800 Da) (1, 2, 3, 4). Elle est synthétisée par la plupart des cellules nucléées. Son turn-over correspond à une production d'environ 150 mg/24h (2, 3, 4). La moitié de la β2 microglobuline plasmatique renouvelée chaque jour provient des lymphocytes.
La β2 microglobuline circulante est filtrée au niveau du glomérule rénal pour être réabsorbée par le tube contourné proximal qui en assure la dégradation (1).
L'augmentation de la β2 microglobuline plasmatique peut donc être due :
- soit à une diminution de la filtration glomérulaire,
- soit à une augmentation de sa synthèse (1, 2).

Le taux de β2 microglobuline plasmatique est donc augmenté chez des patients présentant des maladies autres que rénales et particulièrement celles où le système immunitaire est impliqué (2, 3). Une augmentation significative sera observée lors de maladies telles que le lupus érythémateux, l'arthrite rhumatoïde, le syndrome de Sjogren, les maladies malignes du système lymphoïde (myélome multiple, lymphome à cellules B), certaines maladies virales (hépatite ou SIDA), chez les patients hémophiles. Dans le cas d'une infection par le VIH, c'est un des marqueurs d'évolution péjorative (4, 2, 1).

C'est le paramètre le plus performant pour la détection des dysfonctions tubulaires proximales (2). La détermination du taux urinaire de β2 microglobuline apporte une aide lors du suivi des transplantés rénaux (1).

De nombreuses méthodes de dosage ont été décrites, parmi lesquelles : l'immunodiffusion radiale, l'électro-immunodiffusion, l'immunonéphélémétrie, l'inhibition de la toxicité lymphocytaire et des techniques RIA et ELISA. Ces dernières sont les plus couramment utilisées.

PRINCIPE

Le principe du dosage associe la méthode immuno-enzymatique sandwich en deux étapes à une détection finale en fluorescence (ELFA).
Le cône à usage unique sert à la fois de phase solide et de système de pipetage. Les autres réactifs de la réaction immunologique sont prêts à l'emploi et pré-répartis dans la cartouche.
Toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement dans l'appareil. Elles sont constituées d'une succession de cycles d'aspiration/refoulement du milieu réactionnel.
Après dilution de l'échantillon, la β2 microglobuline de l'échantillon se lie à l'anticorps monoclonal spécifique fixé sur le cône. Des étapes de lavage éliminent les composés non fixés. La β2 microglobuline retenue est révélée par un anticorps polyclonal de mouton anti-β2 microglobuline humaine marqué à la phosphatase alcaline. Le conjugué non fixé est éliminé par lavage.
Lors de l'étape finale de révélation, le substrat (4-Méthyl-ombelliferyl phosphate) est aspiré puis refoulé dans le cône ; l'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse de ce substrat en un produit (4-Méthyl-ombelliferone) dont la fluorescence émise est mesurée à 450 nm. La valeur du signal de fluorescence est proportionnelle à la concentration de la β2 microglobuline présente dans l'échantillon.
A la fin du test, les résultats sont calculés automatiquement par l'instrument par rapport à une courbe de calibration mémorisée, puis imprimés.

COMPOSITION DES REACTIFS DU COFFRET (30 TESTS) :

30 cartouches B2M	STR	Prêtes à l'emploi.
30 cônes B2M	SPR	Prêts à l'emploi. Cônes sensibilisés par de l'anticorps monoclonal anti-β2 M BE 104 (souris).
Calibrateur B2M 1 x 1 ml (liquide)	S1	Prêt à l'emploi. Tampon TRIS (0,05 mol/l) pH 7,4 contenant de la β2 microglobuline d'origine humaine + albumine bovine + azoture de sodium 1 g/l. La concentration en mg/l est indiquée sur la carte MLE avec la mention : "Calibrator (S1) Dose Value". L'intervalle de confiance en "Relative Fluorescence Value" est indiqué sur la carte MLE avec la mention : "Calibrator (S1) RFV Range".
Contrôle positif faible B2M 1 x 1 ml (liquide)	C1	Prêt à l'emploi. Tampon TRIS (0,05 mol/l) pH 7,4 contenant de la β2 microglobuline d'origine humaine + albumine bovine + azoture de sodium 1 g/l. Concentration en mg/l : l'intervalle de confiance est indiqué sur la carte MLE avec la mention : "Control C1 Dose Value Range".
Contrôle positif fort B2M 1 x 1ml (liquide)	C2	Prêt à l'emploi. Tampon TRIS (0,05 mol/l) pH 7,4 contenant de la β2 microglobuline d'origine humaine + albumine bovine + azoture de sodium 1 g/l. Concentration en mg/l : l'intervalle de confiance est indiqué sur la carte MLE avec la mention : "Control C2 Dose Value Range".
1 Carte MLE (Master Lot Entry)		Spécifications des données usine nécessaires à la calibration du test : se référer au Manuel Utilisateur pour la lecture.
1 Notice		

Le cône

Le cône est sensibilisé au moment de la fabrication par de l'anticorps monoclonal anti-β2 M BE104 (souris). Chaque cône est identifié par le code B2M. Utiliser uniquement le nombre de cônes nécessaires et laisser les cônes inutilisés dans leur sachet. **Refermer complètement le sachet après ouverture.**

La cartouche

La cartouche est composée de 10 puits recouverts d'une feuille d'aluminium scellée et étiquetée. L'étiquette comporte un code à barres reprenant principalement le code du test, le numéro de lot et la date de péremption du coffret. Le premier puits comporte une partie prédécoupée pour faciliter l'introduction de l'échantillon. Le dernier puits est une cuvette permettant la lecture en fluorimétrie. Les différents réactifs nécessaires à l'analyse sont contenus dans les puits intermédiaires.

Description de la cartouche B2M:

Puits	Réactifs
1	Puits échantillon
2	Diluant échantillon : tampon TRIS (0,05 mol/l) pH 7,4 + stabilisants protéiques et chimiques + azoture de sodium 1 g/l (600 µl).
3	Solution de prélavage : tampon TRIS (0,05 mol/l) pH 7,4 + stabilisants protéiques et chimiques + azoture de sodium 1 g/l (600 µl).
4 - 5 - 7 - 8	Solution de lavage : tampon TRIS (0,05 mol/l) pH 7,4 + stabilisants protéiques et chimiques + azoture de sodium 1 g/l (600 µl).
6	Conjugué : anticorps anti-β2 microglobuline (mouton) marqué à la phosphatase alcaline + azoture de sodium 1 g/l (400 µl).
9	Diluant échantillon : tampon TRIS (0,05 mol/l) pH 7,4 + stabilisants protéiques et chimiques + azoture de sodium 1 g/l (400 µl).
10	Cuvette de lecture avec substrat : 4-Méthyl-ombelliferyl phosphate (0,6 mmol/l) + diéthanolamine (DEA*) (0,62 mol/l soit 6,6%, pH 9,2) + azoture de sodium 1 g/l (300 µl).

***Réactif IRRITANT :**
- **R 36** : irritant pour les yeux.
- **S 26** : en cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste.

Pour plus d'informations, consulter la fiche de données sécurité disponible sur demande.

MATERIELS ET CONSOMMABLES NECESSAIRES MAIS NON FOURNIS

– Pipette à embout jetable permettant la distribution de 100 µl.
– Gants non talqués à usage unique.
– Pour d'autres matériels et consommables spécifiques se référer au Manuel Utilisateur de l'instrument.
– Instrument de la famille VIDAS.

PRECAUTIONS D'UTILISATION

- **Pour diagnostic *in vitro* uniquement.**
- **Pour usage professionnel uniquement.**
- **Ce coffret contient des composants d'origine humaine. Aucune des méthodes d'analyse actuellement connues ne peut garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible. Il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (se reporter au Manuel de Sécurité Biologique en Laboratoire - OMS - Genève - dernière édition).**
- Ce coffret contient des composants d'origine animale. La maîtrise de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne pouvant garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible, il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (ne pas ingérer ; ne pas inhaler).
- Ne pas utiliser les cônes dont le sachet est percé.
- Ne pas utiliser de cartouches visiblement altérées (feuille aluminium ou plastique endommagé).
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption indiquée sur l'étiquette étui.
- Ne pas mélanger les réactifs (ou consommables) de lots différents.
- Ne pas utiliser **de gants talqués**, le talc pouvant entraîner de faux résultats pour certains tests immuno-enzymatiques.
- Les réactifs du coffret contiennent un conservateur (azoture de sodium), susceptible de réagir avec les tuyauteries en plomb ou en cuivre et de former des azotures métalliques explosifs. Il est recommandé de rincer à l'eau tout rejet.
- Le substrat (puits 10 de la cartouche) contient un agent irritant (diéthanolamine 6,6 %). Prendre connaissance de la phrase de risque "R" et des conseils de prudence "S" citées ci-dessus.
- Les projections doivent être traitées avec un liquide détergent ou une solution d'eau de Javel contenant au moins 0,5 % d'hypochlorite de sodium. Se référer au Manuel d'Utilisation pour éliminer les projections sur ou à l'intérieur de l'instrument. Ne pas autoclaver de produit javellisé.
- L'instrument doit être régulièrement nettoyé et décontaminé (se reporter au Manuel d'Utilisation).

CONDITIONS DE STOCKAGE

- Conserver le coffret VIDAS β2 Microglobulin à 2-8°C.
- **Ne pas congeler les réactifs.**
- **Laisser à 2-8°C les réactifs non utilisés.**
- A l'ouverture du coffret, vérifier l'intégrité et la bonne fermeture du(des) sachet(s) de cônes. Dans le cas contraire, ne pas utiliser les cônes.
- **Après chaque utilisation, refermer complètement le sachet avec son déshydratant pour maintenir la stabilité des cônes et replacer la totalité du coffret à 2-8°C.**
- Tous les composants sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette étui, s'ils sont conservés dans les conditions préconisées.

ECHANTILLONS

Nature et prélèvement des échantillons :

1. Utiliser des sérums ou plasmas (anticoagulants validés : héparinate de lithium, EDTA).

– Ne pas utiliser les échantillons contaminés ou décomplémentés (le traitement des échantillons 30 min à 56°C diminue le taux de β2 microglobuline de 18 à 50 %).

– Les échantillons contenant des impuretés devront être centrifugés avant analyse.

Il n'a pas été observé pour ce dosage d'influence significative :

– de l'hémolyse (après surcharge d'échantillons en hémoglobine : 0 à 300 µmol/l de monomère),

– de la lipémie (après surcharge d'échantillons en lipides : 0 à 5 mmol/l d'équivalent triglycérides),

– de la bilirubinémie (après surcharge d'échantillons en bilirubine : 0 à 513 µmol/l).

Il est néanmoins conseillé de ne pas utiliser d'échantillons visiblement hémolysés, lipémiques ou ictériques et d'effectuer si possible un nouveau prélèvement.

2. **Urines :** mesurer le pH de l'urine à tester le plus rapidement possible après prélèvement.

– Si le pH est supérieur à 5,5, l'échantillon peut être soit testé tel quel mais rapidement malgré l'existence d'enzymes protéolytiques dans l'urine, soit neutralisé (5).

– Si le pH est inférieur à 5,5, neutraliser l'urine, les protéases urinaires ayant leur maximum d'activité à un pH de 5,5 et la β2 microglobuline étant instable à ce pH.

Stabilité des échantillons :

– Les sérums et plasma peuvent être stockés à 2-8°C dans des tubes bouchés 5 jours au maximum. Au-delà, les congeler à - 25 ± 6°C (une seule congélation). Une étude réalisée sur des sérums congelés pendant douze mois n'a montré aucune influence sur la qualité des résultats.

– Les urines après neutralisation peuvent être stockées congelées à - 25 ± 6°C.

MODE OPERATOIRE

Pour des instructions complètes, se référer au Manuel d'Utilisation de l'instrument.

Saisie des données MLE

A l'ouverture d'un nouveau lot, les spécifications (ou données usine) doivent être entrées dans l'instrument à l'aide des données MLE. Si cette opération n'était pas effectuée **avant de commencer les tests**, l'instrument ne pourrait pas éditer de résultats. Ces spécifications ne sont entrées qu'une seule fois pour chaque lot.

Il est possible de saisir les données MLE manuellement ou de façon automatique en fonction de l'instrument (se référer au Manuel d'Utilisation).

Calibration

La calibration, à l'aide du calibrateur fourni dans le coffret, doit être effectuée à l'ouverture de chaque nouveau lot après entrée des spécifications du lot puis tous les 14 jours. Cette opération permet d'ajuster la calibration à chaque instrument et à l'évolution éventuelle du réactif dans le temps.

Le calibrateur, identifié par S1, sera analysé **en double** (voir Manuel d'utilisation). La valeur du calibrateur doit être comprise dans les limites de RFV ("Relative Fluorescence Value") fixées. Si ce n'est pas le cas, la moyenne ne sera pas mémorisée : refaire une calibration.

Réalisation du test

1. **Sortir uniquement les réactifs nécessaires, les laisser 30 minutes à température ambiante avant utilisation.**
2. Utiliser une cartouche "B2M" et un cône "B2M" pour chaque échantillon, contrôle ou calibrateur à tester. **Vérifier que le sachet de cônes a été refermé complètement après chaque utilisation.**
3. Le test est identifié par le code "B2M" sur l'instrument. Le calibrateur identifié obligatoirement par "S1", doit être utilisé **en double**. Si le contrôle positif faible doit être testé, il sera identifié par "C1". Si le contrôle positif fort doit être testé, il sera identifié par "C2".
4. Homogénéiser à l'aide d'un agitateur de type vortex le calibrateur, les contrôles et les échantillons (pour sérum, plasma ou urine séparé du culot).
5. **La prise d'essai du calibrateur, du contrôle et des échantillons est de 100 µl pour ce test.**
6. Placer dans l'instrument les cônes "B2M" et les cartouches "B2M". Vérifier la concordance des codes (couleurs et lettres) entre le cône et la cartouche.
7. Démarrer l'analyse (voir Manuel d'Utilisation). Toutes les étapes sont alors gérées automatiquement par l'instrument.
8. Reboucher les flacons et les remettre à 2-8°C après pipetage.
9. Les résultats sont obtenus en 40 minutes environ. A la fin de l'analyse, retirer les cônes et les cartouches de l'instrument.
10. Eliminer les cônes et cartouches utilisés dans un récipient approprié.

RESULTATS ET INTERPRETATION

Dès le test terminé, les résultats sont analysés automatiquement par le système informatique. L'instrument effectue deux mesures de fluorescence dans la cuvette de lecture pour chacun des tests. La première lecture prend en compte le bruit de fond dû à la cuvette substrat avant mise en contact du substrat avec le cône. La seconde lecture est effectuée après incubation du substrat avec l'enzyme présente dans le cône. Le calcul de la RFV (Relative Fluorescence Value) est le résultat de la différence des deux mesures. Il apparaît sur la feuille de résultats.

Les résultats sont calculés automatiquement par l'instrument par rapport à une courbe de calibration mémorisée (modèle mathématique : modèle logistique à 4 paramètres) et sont exprimés en mg/l.

Remarque : 1 IU = 1,4 x 10^{-2} µg (1st international standard preparation).

Les échantillons présentant des concentrations en β2 microglobuline supérieures à 4 mg/l doivent être redosés après dilution au 1/10 dans du sérum physiologique.

Si le facteur de dilution n'a pas été saisi lors de la création de la liste de travail (voir Manuel d'Utilisation), multiplier le résultat par le facteur de dilution pour avoir la concentration de l'échantillon.

Les résultats d'un dosage de VIDAS β2 Microglobulin doivent être interprétés dans le cadre d'une évaluation clinique, et en complément d'autres méthodes diagnostiques en fonction des pathologies.

CONTROLE DE QUALITE

Un contrôle positif faible et un contrôle positif fort sont inclus dans chaque coffret VIDAS β2 Microglobulin. Les contrôles doivent être utilisés à l'ouverture de chaque nouveau coffret, afin de vérifier l'absence d'altération des réactifs. Chaque calibration doit être également vérifiée à l'aide de ces contrôles. Pour que l'instrument puisse vérifier la valeur des contrôles, il faut les identifier par C1 et C2. Si les valeurs des contrôles s'écartent des valeurs attendues, les résultats ne peuvent être validés.

Remarque

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de s'assurer que le contrôle de qualité est mis en œuvre conformément à la législation locale en vigueur.

LIMITE DU TEST

Une interférence peut être rencontrée avec certains sérums contenant des anticorps dirigés contre des composants du réactif, c'est pourquoi les résultats de ce test doivent être interprétés en tenant compte du contexte clinique et éventuellement des résultats d'autres tests.

VALEURS ATTENDUES

Ces résultats sont donnés à titre indicatif, il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs de référence sur une population rigoureusement sélectionnée.

Première étude :

La valeur de référence pour la concentration en β2 microglobuline dans le sérum ou le plasma a été trouvé de 1,50 mg/l, moyenne obtenue sur 100 adultes présumés sains (donneurs de sang) âgés de 18 à 60 ans. Le domaine de référence correspondant au 95ème percentile varie de 0,81 à 2,19 mg/l. Dans l'urine, il a été trouvé sur une population de 52 adultes, jeunes, présumés sains, une valeur moyenne de 0,07 mg/l. Le domaine de référence correspondant au 95ème percentile varie de 0,00 à 0,15 mg/l.

Deuxième étude :

95 sérums et 47 urines de patients issus d'une population hospitalière pour laquelle aucune maladie susceptible d'entraîner une augmentation du titre de β2 microglobuline n'avait été identifiée, ont été testés.

* Sérums :

Tranche d'âge	Nb de sujets	Valeur moyenne (mg/l)	Valeur la plus élevée (mg/l)
20 à 39 ans	45	1,77	3,47
40 à 59 ans	31	1,59	3,17
60 à 80 ans	19	2,28	3,75

* Urines :

Tranche d'âge	Nb de sujets	Valeur la plus fréquente (mg/l)	Valeur la plus élevée (mg/l)
20 à 39 ans	24	0,01	1,11
40 à 59 ans	20	0,05	1,8
60 à 80 ans	3	-	2,33

PERFORMANCES

Les études de VIDAS β2 Microglobulin ont donné les résultats suivants :

Domaine de mesure

Le domaine de mesure du réactif VIDAS β2 microglobuline s'étend de 0,004 à 4 mg/l.

Limite de détection analytique

Définie de manière graphique comme étant la plus petite concentration en β2 microglobuline significativement différente de la concentration zéro avec une probabilité de 95% : 0,004 mg/l.

Précision

Reproductibilité (intra-essai) :

5 échantillons ont été dosés 30 fois dans une même série.

Sérums	Concentration moyenne (mg/l)	CV (%)
S 1	1,4	9,5
S 2	2,3	11,4

Urines	Concentration moyenne (mg/l)	CV (%)
U 1	0,01	23,8
U 2	0,11	7,2
U 3	0,64	6,8

Reproductibilité (inter-essai) :

3 échantillons sériques et 2 échantillons urinaires ont été dosés en simple dans 7 séries différentes sur un même instrument VIDAS.

Sérums	Concentration moyenne (mg/l)	CV (%)
S 1	3,84	6,4
S 2	1,73	5,8
S 3	1,63	6,9

Urines	Concentration moyenne (mg/l)	CV (%)
U 1	0,28	4,3
U 2	0,42	3,4

EXACTITUDE

Test de dilution :

3 échantillons ont été dilués dans du sérum physiologique et dosés en simple dans 3 séries. La concentration moyenne mesurée rapportée à la concentration attendue est exprimée en pourcentage de récupération moyen.

Echantillons n°	Facteur de dilution	Concen-tration attendue (mg/l)	Concen-tration mesurée (mg/l)	Pour-centage de récupéra-tion
1	1/1	0,89		
	1/2	0,45	0,44	100
	1/4	0,22	0,19	85,6
	1/8	0,11	0,11	95,3
	1/16	0,06	0,05	89,9
	1/32	0,03	0,03	108
2	1/1	1,83		
	1/2	0,92	0,88	96,2
	1/4	0,46	0,41	89,7
	1/8	0,23	0,20	87,7
	1/16	0,11	0,09	78,9
	1/32	0,06	0,05	87,7
3	1/1	3,35		
	1/2	1,67	1,55	92,8
	1/4	0,84	0,79	94
	1/8	0,42	0,34	80,9
	1/16	0,21	0,16	76,2
	1/32	0,10	0,08	80

Comparaison avec un autre réactif EIA commercialisé

Sérum	n	Pente	Intersection à l'origine	Coefficient de corrélation
Sujets normaux	100	0,97	0,13	0,933
Patients HIV +	87	0,9	0,44	0,941
Autres patients	97	1,28	- 0,4	0,995

Urines	n	Pente	Intersection à l'origine	Coefficient de corrélation
Sujets normaux	49	1,04	- 0,007	0,989
Malades	98	1,03	0,09	0,986

ELIMINATION DES DECHETS

Eliminer les réactifs utilisés ou non utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.
Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

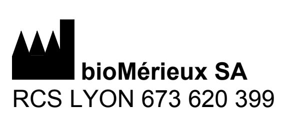
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. KARLSSON F. A., WIBELL L. & EVRIN P. E. - β2 Microglobulin in clinical medicine. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1980, 40, suppl. 154.
2. VINCENT C., ESTEVE J., COOPER E. H., DECONINCK I., FORBES M., POULIK M. D., SABLIN G., VOKAK B. A collaborative study of a preparation of normal human serum for use as a reference in the assay of β2 Microglobulin. Journal of Biological standardization, 1985, 13, 185-197.
3. REVILLARD J. P. La β2 Microglobuline : structure, fonction et métabolisme. Lyon Médical, 1979, 241, 10, 681-690.
4. BELEC L., RIPOLL L., MATTA F., MBOPI KEOU FX, COTIGNY S., LENGUET MF., JACOB A. Marqueurs biologiques prévisionnels d'évolution au cours de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine. Ann. Biol. Clin., 1992, 50, 621-637.
5. ROMETTE et al. - β2 microglobuline : métabolisme,, méthodes de dosage, variations pathologiques - Feuillets de biologie – 1992, vol. 33, n°189.

TABLE DES SYMBOLES

Symbole	Signification
REF	Référence du catalogue
IVD	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Fabricant
	Limites de température
	Utiliser jusque
LOT	Code du lot
i	Consulter les instructions d'utilisation
Σ	Contenu suffisant pour "n" tests




bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 399


69280 Marcy-l'Etoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com


Imprimé en France